

Efecto promotor de crecimiento de una Lisozima natural en la nutrición de pollos de engorde

Luis José Guzmán Sabillón

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2020

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Efecto promotor de crecimiento de una Lisozima natural en la nutrición de pollos de engorde

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Luis José Guzman Sabillón

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2020

Efecto promotor de crecimiento de una Lisozima natural en la nutrición de pollos de engorde

Presentado por:

Luis José Guzman Sabillón

Aprobado:



Yordan Martinez, D.Sc.
Asesor Principal



Rogel Castillo, M.Sc.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria



Luis F. Maldonado, Ph.D.
Asesor



Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Vicepresidente y Decano Académico

Efecto promotor de crecimiento de una Lisozima natural en la nutrición de pollos de engorde

Luis José Guzmán Sabillón

Resumen. En la actualidad, el uso de los antibióticos subterapéuticos como promotores de crecimiento en la producción avícola latinoamericana es de uso cotidiano para incrementar la eficiencia de estos animales, sin embargo, su uso continuado tiene secuelas colaterales importantes. Este estudio tuvo como finalidad aislar la Lisozima de la clara de huevo y evaluar su efecto en el desempeño productivo y las características de la canal de los pollos de engorde. Un total de 320 pollos de engorde de un día de edad se distribuyeron aleatoriamente durante 35 días en dos tratamientos, cuatro repeticiones por tratamiento y 40 pollos por repetición. Los tratamientos experimentales consistieron en una dieta basal y DB + 10 ppm de Lisozimas. Se logró aislar las Lisozimas por cromatografía de intercambio catiónico. El grupo experimental con Lisozimas mejoró ($P \leq 0.05$) el peso vivo final y conversión alimenticia, sin deprimir el consumo de alimento y la viabilidad de los pollos de engorde. Así mismo, la Lisozima incrementó el peso relativo de los órganos linfoides y la morfometría del intestino delgado, sin cambios en las porciones comestibles. La adición dietética con Lisozimas disminuyó el pH cecal, sin afectar el crecimiento de las bacterias ácido lácticas, además, la concentración de inmunoglobulinas (IgA e IgG) y el hemograma no cambió por efecto de los tratamientos experimentales. Se recomienda utilizar 10 ppm de Lisozimas de la clara de huevo en las dietas de pollos de engorde para maximizar el potencial biológico de los pollos de engorde.

Palabras clave: Antibióticos, cromatografía, eficiencia productiva, pollo de engorde, viabilidad.

Abstract. Currently, the use of sub-therapeutic antibiotics as growth promoters in Latin American poultry production is in daily use to increase the efficiency of these animals, however, its continued use has important collateral consequences. The purpose of this study was to isolate lysozyme from egg white and to evaluate its effect on the productive performance and the characteristics of the carcass of broilers. A total of 320 one-day-old broilers were randomized over 35 days in two treatments, four replicates per treatment and 40 chickens per replicate. The experimental treatments consisted of a basal diet and DB + 10 ppm of lysozymes. The lysozymes were isolated by cation exchange chromatography. The experimental group with lysozymes improved ($P \leq 0.05$) the final live weight and feed conversion, without depressing the feed intake and the viability of the broilers. Likewise, lysozyme increased the relative weight of the lymphoid organs and the morphometry of the small intestine, without changes in the edible portions. The dietary addition with lysozymes decreased the cecal pH, without affecting the growth of lactic acid bacteria, in addition, the concentration of immunoglobulins (IgA and IgG) and the hemogram did not change due to the effect of the experimental treatments. It is recommended to use 10 ppm of lysozymes from egg white in broiler diets to maximize the biological potential of broilers.

Key words: Antibiotics, broilers, chromatography, productive efficiency, viability.

ÍNDICE GENERAL

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figura	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y METODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIÓN.....	15
5. RECOMENDACIONES.....	16
6. LITERATURA CITADA	17

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURA

Cuadros	Página
1. Ingredientes y aportes nutricionales de los pollos de engorde Cobb 500®	6
2. Análisis de proteína en la CMC aislada	7
3. Determinación proteica de la Lisozima.....	7
4. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en el desempeño productivo de los pollos de engorde (0-35 días).....	8
5. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en el peso relativo de las porciones comestibles y órganos digestivos de los pollos de engorde (35 días).....	10
6. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en el pH y bacterias ácido lácticas cecales digestivos de los pollos de engorde (35 días)	12
7. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en la concentración de inmunoglobulinas y hemograma de los pollos de engorde (35 días)	13

Figura	Página
1. Diagrama de flujo de proceso para el aislamiento de Lisozimas	3

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la carne de pollo es uno de los alimentos con mayor demanda en el mercado, llegando a producciones mundiales de más 90 millones de toneladas en el 2018 (USDA 2018), se espera que su producción incremente proporcionalmente debido al crecimiento demográfico y factores socioeconómicos. Según la FAO (2019) la carne de pollo es considerada uno de los alimentos más asequibles para la población. La implementación de nuevas tecnologías en genética, reproducción y producción han logrado rendimientos significativos en la última década, así la industria avícola tiene un posicionamiento dominante en el mercado (FAO 2013). Dado este incremento, de la misma manera incrementa el uso de insumos como el uso de los antibióticos promotores de crecimiento y probióticos, estos son usados en la industria para maximizar sus producciones al menor costo posible (Apata 2008).

A pesar de su consumo a gran escala, actualmente existen nichos de mercado con consumidores muy exigentes. Los retos de la avicultura moderna y la producción animal se basan en la producción con el uso mínimo o nulo de antibióticos promotores de crecimiento, debido a estudios que demuestran los riesgos del uso excesivo, como los factores que favorecen el desarrollo de resistencia y la copia de los genes resistencia entre diferentes bacterias gran negativas y positivas, así también como la bioacumulación de bacterias resistentes entre diferentes huéspedes, los animales son considerados como reservorios para genes de resistencia que pueden causar zoonosis a humanos (Schwarz *et al.* 2001). Aunque los antibióticos han sido un gran logro en la medicina, en la producción animal, han sido utilizados durante mucho tiempo en el concentrado como profilácticos, para tratamientos de diversas enfermedades y con la finalidad de mejorar parámetros productivos (Gong 2014).

Las enfermedades entéricas son de gran importancia en la avicultura, ya que somete los animales a situaciones de estrés, siendo causantes de pérdidas de productividad que incrementan la mortalidad y la estabilidad de la granja (Patterson y Burkholder 2003). El tracto digestivo cumple una de las funciones más primordiales para el buen desarrollo y manutención del organismo, tales como la digestión, absorción de nutrientes y la eliminación de los desechos fecales (Prendes 2019), el SGI se considera el segundo cerebro de un cuerpo, el cual tiene una comunicación directa con el sistema nervioso central para la regulación de funciones digestivas del animal.

En la biotecnología moderna se conoce que existen ciertas proteínas y enzimas de origen biológico que cuentan con la capacidad bactericida o con la capacidad de desintegrar la membrana de bacterias Gram positivas, por ejemplo, la Lisozima, también conocida como muramidasa (N-acetil muramidaglicano hidrolasa), es una proteína de 129 aminoácidos de estructura globular con un papel muy importante en la biología moderna, la química de proteínas y en la inmunología (Abergel *et al.* 2007).

Fue descubierta por Alexander Fleming en 1921, demostrando la presencia de esta proteína en muchos organismos mamíferos, en aves, reptiles y entre otros. Se produce en tejidos y glándulas, encontrado en leche materna, calostro bovino, huevos de aves, saliva, leucocitos, incluso en excreciones del organismo, como ser: lagrimas, mocos nasales, saliva, semen, suero sanguíneo,

loquios (Niyonsaba *et al.* 2005). Lesnierowski *et al.* (2004) establecieron que las Lisozimas forman 3.9% del total de las proteínas del huevo, con una concentración de 40 mg/100 mL de clara.

La actividad antibacterial de las Lisozimas consisten en la hidrólisis de glucósidos y polisacáridos formados en la membrana microbiana, pero exhibe mayor actividad en las bacterias Gram positivas por la diferencia en estructura de su pared celular en comparación con las Gram negativas, donde cumple una función bacteriostática (Lesnierowski *et al.* 2004). Las Lisozimas han sido usadas en la industria alimenticia como preservantes para comidas frescas, preservantes en vinos e incluso productos derivados lácteos (Nattress 2001).

La industria pecuaria a través de los años ha considerado los procesos virales, bacterianos y parasitarios como los únicos indicadores del bajo índice productivo. Sin tomar en cuenta que esta problemática se debe a procesos infecciosos causados por enterobacterias como la *Clostridium perfringens* y *Clostridium tyrobutyricum* (Zhang *et al.* 2006). La capacidad de absorción de nutrientes del ave, ganancias de peso, el índice de conversión alimenticia o incluso la uniformidad de parvadas, dependen de un buen manejo clínico de las aves, de lo contrario, dichos problemas causan grandes pérdidas económicas a la industria avícola.

Tomando en cuenta todos estos parámetros, una buena salud intestinal en el ave será clave para un excelente desempeño productivo, partiendo de una buena asimilación y translocación de los nutrientes, aumentando su eficiencia alimenticia, mejorando índices de conversión alimenticia y la rentabilidad económica de la granja. Dentro de los principales efectos esperados en la implementación de Lisozimas, se relaciona su actividad bactericida, su capacidad promotora de crecimiento, impacto en la salud intestinal e inmunología de las aves. El objetivo de este estudio fue la evaluación del efecto de las Lisozimas de la clara de huevo en el rendimiento de los pollos de engorde.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, tanto como el aislamiento de la Lisozima y análisis de proteína se realizaron en Laboratorio de Alimentos de Zamorano (LAAZ) y el ensayo se llevó a cabo en el Centro de Investigación y Enseñanza Avícola de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, ubicada en el Valle del Yegüare, Km 30 de la carretera Tegucigalpa-Danlí, Honduras, durante los meses de junio a septiembre del 2020. La ubicación presenta una altitud de 800 msnm, precipitación promedio anual de 1,100 mm y una temperatura promedio de 26 °C.

Fase I. Aislamiento de la Lisozima

La Lisozima se aisló mediante cromatografía de intercambio catiónico usando la técnica postulada por Chiu *et al.* (2007). Se procesaron 263 huevos frescos en 30 aislamientos con un total de 512 muestras. El proceso de aislamiento de la Lisozima se muestra en la Figura 1.

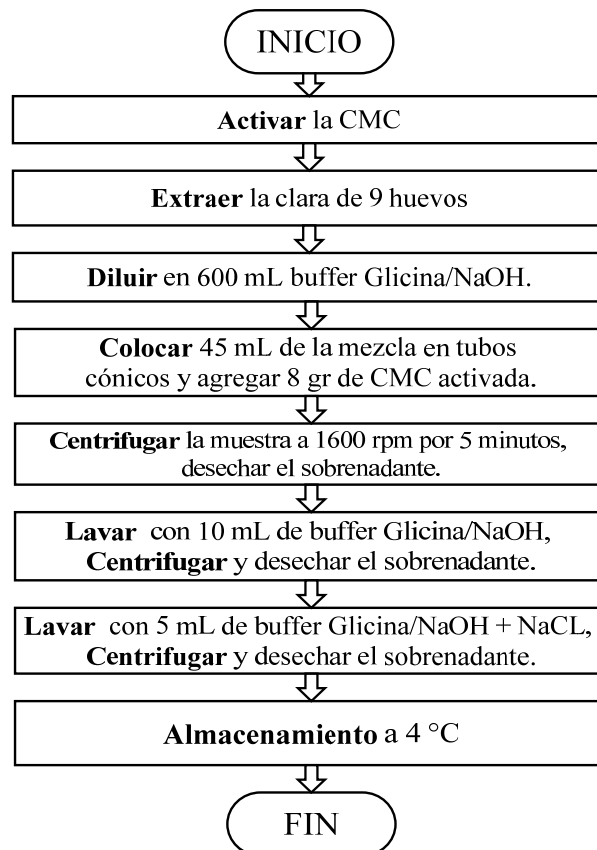


Figura 1. Diagrama de flujo de proceso para el aislamiento de Lisozimas.

Activación CMC. Previamente a su utilización la carboximetil-celulosa (CMC) fue activada, mediante la premezcla (v/v) con HCl 0.5 M, seguido se dejó reposar durante 5 minutos, agregando agua y se mezcló. Luego se agregó NaOH 0.5M, con reposo de 5 minutos y se agregó agua y se

mezcló. Finalmente se realizó una suspensión (v/v) en buffer A (Glicina/NaOH, pH 10.2) y se homogenizó hasta obtener un gel.

Extracción de clara. La clara fue extraída de huevos de gallina frescos, colocando la clara de nueve huevos en un beaker de 1 L para su posterior uso.

Dilución en buffer. En un beaker de 1 L se colocaron 600 mL de buffer A, luego se agregó las claras de huevo. Posteriormente se llevó a una plancha magnética para su agitación hasta alcanzar homogenización.

Preparación de muestra. Se colocaron 45 mL de la mezcla en tubos cónicos y se agregó 8 g de carboximetil-celulosa (CMC) previamente activada. Finalmente se aplicó una leve agitación.

Centrifugado. Los tubos se llevaron a centrifugación por 5 minutos a 1,600 rpm a 23 °C por cada ronda: 1) Centrifugado inicial; 2) Primer lavado; 3) Segundo Lavado.

Lavados. Luego de cada centrifugado las muestras pasaron por dos lavados: 1) 10 mL de buffer A 2) 5 mL de buffer A + NaCl. Las eluciones de cada lavado fueron desechadas.

Almacenamiento. Una vez concluido el segundo lavado, el gel se retiró de los tubos cónicos y se almacenó en envases de plástico individuales por cada ronda. Finalmente se almacenó bajo refrigeración a 4 °C.

Medición de proteína cruda. Se midió el contenido de proteína cruda con el método oficial AOAC 991.20 (Thiex *et al.* 2002), se utilizó un método directo Kjeldahl con un factor de empírico de 6.25 establecido para alimentos (MAFF 1975).

Deshidratación parcial y molienda. Se realizó un deshidratado parcial de la CMC aislada en una mezcla peso a peso (%p/p) con harina de soya a temperaturas de 60 y 70 °C durante 7 horas hasta lograr un secado uniforme. Luego, se realizó una molienda del producto deshidratado con un tamaño de partícula de 2 mm en un molino de tipo martillo.

Actividad de agua (Aw). Se utilizó el Aqualab para evaluar el agua libre del concentrado final. El Aqualab indica una escala de 0-1 (0= nada de agua libre para reacciones bioquímicas y 1= máxima cantidad de agua libre para reacciones bioquímicas).

Ensayo en campo. Para el ensayo, se ubicaron un total de 320 pollos de la línea genética Cobb 500[®] de un día de edad, se distribuyeron aleatoriamente en dos tratamientos, cuatro repeticiones por tratamientos y 40 pollos por repetición. Los tratamientos experimentales consistieron en una dieta basal (DB) y DB + 10 ppm de Lisozima. Las dietas se formularon en base a los requerimientos energéticos con aceite de palma para la línea genética en estudio (Cuadro 1), con un sistema de alimentación trifásico (inicio 0-8 días; crecimiento 9-18 días y final 19-35 días).

Cada repetición se realizó en corrales individuales con cama profunda de viruta de madera a una densidad de 9 aves/m². El alimento y el agua se ofertaron de manera *ad libitum* en comedero tipo tolva y bebederos con nipple. Durante el período abierto, el galpón se desinfectó y el equipo se lavó según las normas de bioseguridad. La temperatura en la etapa inicial dentro del galpón se

controló con criadoras a gas hasta una temperatura de 33 °C y ventiladores de techo, para las siguientes etapas con el manejo de cortinas y ventilación. Durante toda la etapa experimental no se ocupó intervención veterinaria ni medicamentos.

Durante cada fase experimental (inicio, crecimiento y final) se determinaron indicadores de desempeño productivo en los pollos de engorde. Se determinó la viabilidad mediante los índices de mortalidad sobre los existentes al inicio del experimento. El índice de conversión alimenticia (ICA) se calculó como el consumo de alimento sobre la ganancia de 1 g de peso vivo (PV). El peso inicial y el final se realizó de forma individual al primer día, a los 10 días de edad, 18 días de edad y 35 días de edad en una balanza industrial Mettler Toledo® IND226 con precisión ± 1.00 g, respectivamente. Así mismo, el consumo de alimento acumulado (CA), se calculó al final de cada etapa de crecimiento mediante el método de oferta y rechazo. Para la toma de pesos en cada etapa se realizó de forma grupal por cada repetición, en una balanza industrial.

Al día 35, previamente al sacrificio, se tomaron muestras de sangre para un hemograma completo y análisis serológico de inmunoglobulinas, tres aves por tratamiento. Continuamente se sacrificaron por el método desangrado yugular, 10 aves por tratamiento sometidas en ayuno por 6 horas. Para determinar el peso relativo de la canal y vísceras se realizó un pesaje de los pollos de ceba antes del sacrificio en una balanza digital “Truweigh™ Blaze digital scale” BL-100-01-BK con precisión ± 0.1 g. Luego del sacrificio se pesó la canal, vísceras comestibles (hígado, corazón y molleja), órganos inmunes (timo, bazo y bolsa de Fabricio), intestinos, ciegos, pechuga, pierna y grasa abdominal. Seguido el sacrificio, se determinó el pH en el ciego derecho de 5 aves/tratamiento en ayunas, mediante un potenciómetro digital Aquarium® modelo pH Meter, calibrado con soluciones buffer de pH a 4.00, 7.00 y 10.0. Además, en el sacrificio, se tomó el ciego izquierdo de 3 aves/tratamiento y se hizo un análisis en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano.

Cuadro 1. Ingredientes y aportes nutricionales de los pollos de engorde Cobb 500®.

Ingredientes	Inicio (0-8 días)	Crecimiento (9-18 días)	Finalizador 1 (19-35 días)
Harina de maíz de descarte (10.59 %)	58.85	64.63	67.15
Harina de soya (46.83%)	32.4	27.15	24.31
Premezcla de minerales y vitaminas	0.5	0.50	0.50
Cloruro de sodio	0.5	0.50	0.50
Aceite de palma africana	3.53	3.25	3.96
Colina	0.05	0.05	0.05
DL-Metionina	0.34	0.31	0.28
L-Treonina	0.16	0.12	0.08
L-Lisina	0.32	0.34	0.30
Carbonato de calcio	1.60	1.53	1.42
Biofos	1.53	1.40	1.23
Mycofix plus 5.0	0.12	0.12	0.12
Enzimas Lumis Lbzyme X50	0.05	0.05	0.05
Coccidiostato	0.05	0.05	0.05
<i>Aportes nutricionales</i>			
Energía metabolizable (kcal/kg MS)	2,975	3,025	3,100
Proteína cruda	22.00	20.00	19.00
FND	15.22	15.95	16.01
Fibra cruda	3.05	3.06	0.76
Ca	0.90	0.84	0.38
P disponible	0.45	0.42	1.02
Lisina	1.22	1.12	1.06
Metionina+cistina	0.91	0.85	0.80
Treonina	0.83	0.73	0.66
Triptófano	0.20	0.18	0.17

FND: Fibra neutro detergente; Ca: Calcio; P: Fósforo.

Diseño experimental y análisis estadístico

Los datos se procesaron mediante la prueba t de Student desapareada, según diseño completamente aleatorizado (DCA). Previamente, se verificó la normalidad de los datos por la prueba de Kolmogorov-Smirnov (1951) y la uniformidad de la varianza por la prueba de Bartlett (1937). Para determinar la viabilidad se utilizó una comparación de proporciones. Se usó el software estadístico SPSS versión 23.0.1.2014.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento

Durante todo el proceso de aislamiento, mediante la cromatografía de intercambio catiónico, se obtuvo un total de 4,422 g de CMC aislada con la equivalencia de 4.88 g de Lisozima purificada, proveniente de 263 huevos frescos, respectivamente. La cual fue sometida posteriormente a una deshidratación con harina de soya para reducir la humedad.

Análisis de proteína

En el Cuadro 2 se puede evidenciar los porcentajes de proteína al someter una mayor cantidad de huevos por aislamiento. A medida que el volumen de la clara incrementa, el contenido de proteína aumenta proporcionalmente; por lo tanto, influye directamente en la concentración final y la eficiencia del proceso. El contenido de proteína según el análisis Kjeldahl, es de 0.12% de proteína en una muestra de 1.2 g, lo que representó 1.32 mg de Lisozima, lo que en su totalidad se obtuvieron 4.88 g de Lisozima purificada.

Cuadro 2. Análisis de proteína en la CMC aislada.

Descripción	Huevos	Proteína (%)	Unidad (%)
Aislamiento 1	2	0.24	0.12
Aislamiento 5	4	0.40	0.10
Aislamiento 6	5	0.44	0.09
Aislamiento 15	12	1.62	0.13
Aislamiento 18	10	1.36	0.14
Aislamiento 21	11	1.68	0.15
		Promedio:	0.12

Nota: El porcentaje equivale a la cantidad de proteína en 1.2 g de carboximetil-celulosa.

En el Cuadro 3 se observa que el porcentaje de Lisozima en la clara de un huevo representa un 3.9% del 11% de las proteínas totales, se encontró una proporción de 39 mg/100 mL de clara, aproximadamente 20 mg/huevo (Lesnierowski *et al.* 2004). Valores similares se observaron en los resultados Kjeldahl donde se encontró un 3.71% que representan una concentración de 18.56 mg/huevo.

Cuadro 3. Determinación proteica de la Lisozima.

Fuente	Contenido (%)	Unitario (mg) ¹
G. Lesnierowski	3.90%	19.5
LAAZ ²	3.71%	18.56
	Efectividad	98.17%

¹ Por huevo, ²((Lesnierowski *et al.* 2004), ³ Análisis proteico Laboratorio de Alimentos de Zamorano.

Lesnierowski *et al.* (2004) que estudiaron el huevo procedente de Gallinas Mediterráneas (Leghorn) y utilizó el método de cristalización y precipitación mediante cromatografía de intercambio iónico y el Método de Lowry para la cuantificación de proteínas.

En el Cuadro 4 se observa el efecto de la suplementación dietética con Lisozima (10 ppm) en el desempeño productivo de pollos de engorde. En cuanto a los indicadores productivos en pollos de engorde de (1-8 días) se pueden observar diferencias estadísticas en el consumo de alimento y conversión alimenticia ($P \leq 0.05$). El tratamiento con Lisozimas presentó diferencias ($P \leq 0.05$) con respecto al tratamiento control, sin embargo, no mostró diferencias ($P > 0.05$) para el peso vivo final y viabilidad. En los días de crecimiento (9-18) se observa que no existe variabilidad estadística ($P > 0.05$) en cuanto PVF, CA e ICA, en esta etapa de crecimiento la adición de Lisozimas no tiene influencia para las variables anteriormente mencionadas. En la etapa de finalización (19-35) se observa que el peso vivo final mostró diferencias ($P \leq 0.05$) entre el tratamiento con Lisozimas y el tratamiento control. No obstante, en cuanto CA, ICA y Viabilidad no presentó diferencias notables ($P > 0.05$). En resumen, durante toda la fase experimental (1-35 días) el desempeño productivo acumulado de los pollos de engorde no indicó diferencias ($P > 0.05$) para el consumo de alimento y viabilidad. Sin embargo, la conversión alimenticia disminuyó significativamente la conversión alimenticia ($P \leq 0.05$).

Cuadro 4. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en el desempeño productivo de los pollos de engorde (0-35 días).

Ítems	Tratamientos experimentales		EE±	Valor de P
	Control	Lisozimas		
<i>0-8 días</i>				
Peso vivo inicial (g)	43.00	43.25	0.177	0.356
Peso vivo final (g)	156.12	165.93	4.013	0.106
Consumo de alimento (g)	154.68	135.63	4.872	0.033
Conversion alimenticia	1.38	1.11	0.031	0.001
Viabilidad (%)	100	99.38	0.354	0.356
<i>9-18 días</i>				
Peso vivo final (g)	510.18	530.43	10.874	0.208
Consumo de alimento (g)	518.35	538.35	18.603	0.480
Conversion alimenticia	1.47	1.43	0.037	0.452
Viabilidad (%)	100	98.75	0.884	0.356
<i>19-35 días</i>				
Peso vivo final (g)	1,863.63	1,995.51	31.333	0.010
Consumo de alimento (g)	2,278.19	2,297.55	50.352	0.795
Conversion alimenticia	1.69	1.57	0.033	0.029
Viabilidad (%)	97.37	99.34	0.909	0.175
<i>0-35 días</i>				
Consumo de alimento (g)	2,972.24	2,951.17	49.803	0.775
Conversion alimenticia	1.64	1.52	0.029	0.007
Viabilidad (%)	98.71	99.57	0.612	0.355

En la etapa de inicio (1-8), considera que el consumo de alimento y la conversión alimenticia están directamente relacionados, se puede atribuir que el mayor peso vivo con las Lisozimas es debido a

la mejor la salud intestinal del ave, lo que promueve el desarrollo de las vellosidades y la profundidad de las criptas en su etapa inicial, así mismo por su efecto bactericida, ya que el tratamiento con Lisozimas fue el que tuvo menor conversión alimenticia, con la mayor eficiencia productiva.

Durante los días de crecimiento (9-18) el tratamiento con Lisozimas demostró que este producto no provoca morbimortalidad de los pollos de engorde, sin diferencias significativas ($P > 0.05$) la viabilidad mostró ser del 98.75%. En los demás parámetros sus resultados fueron iguales entre el tratamiento control y tratamiento con Lisozimas, sin diferencias significativas ($P > 0.05$). Para la etapa de finalización (18-35), las diferencias estadísticas ($P > 0.05$) a favor del tratamiento con Lisozimas para conversión alimenticia pueden ser acreditadas a un buen desarrollo del sistema digestivo, ya que las aves fueron eficientes en metabolizar sus alimentos y en la disposición de estos.

Según Lee *et al.* (2009) una suplementación dietética con Lisozimas puede mejorar la respuesta inmunitaria, lo que ayuda a mantener la función de la barrera intestinal y mejorar el rendimiento de crecimiento. Por lo cual se atribuye que las Lisozimas tuvieron un efecto positivo en los pollos de engorde a lo largo del estudio, dado a su función bacteriolítica de bacterias Gram positivas, ya que la Lisozima cuenta con la capacidad de provocar una lisis de estas mediante la destrucción de enlaces glucosídicos en el peptidoglicano bacteriano que forma la pared celular (Sahoo *et al.* 2012). De igual manera, Abdel-Latif *et al.* (2017) demuestran que la inclusión de 90 ppm de Lisozima en la dieta a base de maíz mejoró el rendimiento en aves Ross 308 durante 35 días. Los estudios de Ma *et al.* (2017) sugieren que la Lisozima puede tener el potencial de reemplazar los antibióticos promotores de crecimiento en los esfuerzos para convertir la producción más eficiente en la industria avícola.

Caídas de producción o de la eficiencia productiva se puede deber a que en esta etapa de crecimiento las aves estuvieron sometidas a altas humedades relativas, humedad de cama y altas concentraciones de amoníaco. Según Bojesen *et al.* (2003), caídas de productividad, bajas tasas de producción y ganancia de peso en aves de corral puede deberse a factores externos que afecten la bioseguridad y así la proliferación de organismos patógenos intestinales cuando las aves no están sometidas a un tratamiento con antibióticos.

En el Cuadro 5 se observa el efecto de la suplementación dietética con Lisozimas aisladas del huevo de gallina en las características de la canal de pollos de engorde a los 35 días. La pechuga, pierna, grasa abdominal, hígado, corazón y molleja no presentaron diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$). El peso relativo de la canal en el tratamiento con Lisozimas no presentó diferencias ($P > 0.05$) con respecto al tratamiento control. Sin embargo, en el peso relativo del intestino delgado y ciegos del tratamiento control y el tratamiento con Lisozimas difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$), siendo el tratamiento con Lisozimas el de mejor resultado. En cuanto a Timo y Bolsa de Fabricio difieren entre sí con diferencias notables ($P \leq 0.05$) con respecto al tratamiento con Lisozimas, siendo mayor que el tratamiento control en peso relativo. Mientras que el Bazo no presentó diferencias significativas entre los grupos experimentales ($P > 0.05$).

Cuadro 5. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en el peso relativo de las porciones comestibles y órganos digestivos de los pollos de engorde (35 días).

Ítems	Tratamientos experimentales		EE±	Valor de P
	Control	Lisozimas		
Canal (%)	70.53	72.41	0.721	0.081
Pechuga (%)	29.11	29.09	0.952	0.986
Pierna (%)	14.79	15.50	0.321	0.137
Grasa abdominal (%)	1.18	1.31	0.094	0.356
Hígado (%)	2.23	2.09	0.094	0.312
Corazón (%)	0.56	0.49	0.029	0.089
Molleja (%)	2.67	2.56	0.096	0.445
Intestino delgado (%)	3.52	3.14	0.117	0.035
Intestino delgado (cm)	168.60	174.50	3.973	0.308
Ciegos (%)	0.60	0.46	0.032	0.006
Ciegos (cm)	17.60	18.10	0.251	0.175
Timo (%)	0.12	0.20	0.014	0.001
Bolsa de Fabricio (%)	0.14	0.18	0.011	0.024
Bazo (%)	0.11	0.10	0.007	0.292

Las porciones comestibles son el principal motivo para una producción avícola, pues son las piezas de mayor valor económico, en este experimento el rendimiento en canal observado con la inclusión de 10 ppm de Lisozima fue de 72.41% con relación a un peso vivo promedio de 1,995.51 g, estos datos se comparan al rendimiento proyectado por la casa comercial (Cobb Vantress 2018), quienes en su guía técnica para Cobb 500[®] estiman que para un ave con peso vivo de 2,155 g predicen un rendimiento en porcentaje de canal del 72.90%.

Comercialmente, la pechuga es considerada como el corte en canal de mayor valor económico, debido a su gran demanda y precio accesible en comparación con otras carnes. Para llegar a mayores pesos en canal y mayor disposición de carne en pechuga los genetistas han desarrollado nuevas líneas genéticas con altos rendimientos en pechuga y demás partes comestibles. Así mismo, Cobb Vantress (2018) en la guía técnica para Cobb 500, estiman un rendimiento en porcentaje de pechuga del 24%, mientras que en el experimento tanto el tratamiento control y el tratamiento con Lisozimas tuvieron un rendimiento >29% en relación con el peso vivo.

El corazón anatómicamente durante la disección mostró tener un peso promedio de 10.20 ± 5 g entre el tratamiento con Lisozimas y tratamiento control, en relación con porcentaje al peso vivo, en el tratamiento con Lisozimas mostró tener un porcentaje menor al tratamiento control, esto debido a que el corazón cumplió su función en aves de mayor tamaño, pero estadística y anatómicamente no hay inferencias ($P > 0.05$). El corazón es considerado uno de los órganos más importantes del organismo pues es el principal órgano cardiovascular especializado en bombear la sangre a todo el cuerpo del ave (Whittow 2014).

Por otro lado, en la proporción del hígado con respecto al peso vivo de ave, no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos, pero anatómicamente conservó un peso adecuado, siendo mayor el tratamiento con Lisozimas por 3 g, respectivamente. El hígado es uno de los

principales órganos, constituye el sostén en la vida del ave, pues es el encargado de la digestión, diversos procesos metabólicos, el almacenamiento y liberación de lípidos, carbohidratos y proteínas (Zaefarian *et al.* 2019).

La molleja es uno de los órganos del sistema digestivo de importancia, ya que al carecer de dientes es donde la trituración y homogenización del bolo alimenticio ocurre para que así pueda pasar al intestino delgado. Xu *et al.* (2017) demostraron que la inclusión en la dieta de 50% de maíz molido ayudó a incrementar el peso relativo de la molleja ($P \leq 0.01$) en pollos de engorde al día 28. Datos similares se obtuvieron en el tratamiento con Lisozimas, donde mostró tener un peso relativo mayor, aunque no se presentaran diferencias significativas ($P > 0.05$) con respecto al tratamiento control.

Con respecto al intestino delgado, en este órgano se centra el objeto de estudio, pues un estudio realizado por Humphrey *et al.* (2002) demuestran que la inclusión de Lisozimas en las dietas para pollos de engorde de 3 a 20 días de vida ayuda al buen desarrollo del intestino delgado, lo que aumenta el largo de las vellosidades y la profundidad de las criptas en el duodeno, yeyuno e íleon, dando como resultado una mayor salud intestinal e incrementando la capacidad para la absorción de los nutrientes. Datos similares se obtuvieron en el tratamiento con Lisozimas, que aún sin inferencias estadísticas ($P > 0.05$) el peso relativo y largo del intestino delgado fue mayor que el tratamiento control, así la inclusión de las Lisozimas tiene un efecto positivo en el desarrollo, peso, largo y espesor de la pared intestinal (Gong *et al.* 2017).

Durante la disección de los pollos, se encontró que para el tratamiento con Lisozimas el largo de los ciegos fue un 3% mayor en comparación con el tratamiento control, esto puede influir significativamente en la nutrición y salud del ave. Además, una mayor producción de ácidos grasos volátiles de cadena corta pueden inhibir el crecimiento de patógenos y mejorar la absorción de minerales (van Immerseel *et al.* 2005).

En cuanto los órganos inmunológicos (Bolsa de Fabricio, Timo y Bazo), la Bolsa de Fabricio al presentar un mayor tamaño en comparación al tratamiento control reflejan un mayor estado de salud, siendo las aves inmunodeprimidas las que son susceptibles a tener órganos linfoides más pequeños, la BF es un órgano cumple una función muy importante en la integridad morfológica y funcional del sistema inmune, ya que es donde los Linfocitos B se capacitan (Guo *et al.* 2004).

Además, el bazo es considerado un órgano linfático secundario encapsulado, caracterizado por la destrucción de los eritrocitos (función hemocatórica), responsable de procesar los antígenos e inmunoglobulinas que transitan en todo el sistema hematopoyético. Narabara *et al.* (2009) explican que existe una correlación positiva entre el peso de la Bolsa de Fabricio y el Bazo, es decir, que ambos crecen a la misma proporción. Datos muy similares se encontraron en el presente experimento, el tratamiento con Lisozimas, aún sin inferencias estadísticas ($P > 0.05$) el bazo presentó una diferencia del 4% en tamaño en comparación con el tratamiento control, respectivamente.

Al igual que el Timo, el tratamiento con Lisozimas presentó una proporción relativamente mayor al tratamiento control, esto refleja una mejor salud inmune en el ave al ser in órgano linfático primario, ya que es donde se aíslan los linfocitos T. Según Vacchio y Ashwell (2000) el tamaño

del timo es un indicador sensible al estado de salud del ave, así como la respuesta a situaciones de estrés, así que un mayor tamaño será indicador de una buena salud inmune.

En los ciegos se encuentra la comunidad microbiana más densamente poblada, la cual se involucra en muchos procesos, en el Cuadro 6 se puede observar la densidad poblacional de bacterias ácido-lácticas. Los ciegos cumplen una función vital, ya que mediante la fermentación anaeróbica es donde se recicla la urea, se sintetizan las vitaminas del complejo B y los aminoácidos esenciales, también cumple con la función de degradar los polisacáridos complejos presentes en el alimento y también influye en la producción de ácidos grasos de cadena corta de valor nutricional (Sergeant *et al.* 2014).

Cuadro 6. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en el pH y bacterias ácido lácticas cecales digestivos de los pollos de engorde (35 días).

Ítems	Tratamientos experimentales		EE±	Valor de P
	Control	Lisozimas		
pH cecal	6.73	6.58	0.018	0.001
Cocos (Blancas)*	3.73	4.05	0.573	0.716
Bacilos (Verdes)*	4.46	4.76	0.273	0.486
Total de BAL*	4.82	4.91	0.292	0.838

*Log UFC/g; BAL: Bacterias ácido-lácticas.

Dentro de los parámetros evaluativos de los ciegos se destaca el pH, el cual muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$) a favor del tratamiento con Lisozimas, mostrando un pH inferior en comparación con el tratamiento control. Según Nisbet *et al.* (1994) una reducción en el pH cecal está asociado con un elevado nivel de ácido láctico, ambiente el cual es creado por bacterias ácido-lácticas que colonizan los ciegos.

Así mismo, el conteo total de Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) en los ciegos no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos, mientras que morfológicamente la abundancia de cocos y bacilos en la población de BAL no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos, respectivamente. El tipo y números de bacterias que participan en la composición de la microbiota en el sistema gastrointestinal tiene una relación estrecha con la salud del ave y la productividad, ya que las BAL en especial los lactobacilos y estreptococos son dos géneros de bacterias benéficas para el organismo (Stevens y Hume 1998).

Los resultados obtenidos contradicen los datos obtenidos en un estudio por Rubio (2014), donde con una suplementación de 200 ppm de Lisozima en pollos de engorde redujo significativamente ($P < 0.05$) la población de bacterias benéficas Gram positivas, como el *Lactobacillus*, lo cual permitió la colonización de organismos patógenos, los cuales compiten por nutrientes en el hospedero.

Para los parámetros hematológicos (Cuadro 7) correspondiente a las aves, en la serie de inmunoglobulinas, ninguno de los tratamientos marcó diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos. De igual modo, los parámetros de la serie roja (eritrocitos, hemoglobina, PCV:

presión venosa central, MCV: volumen corpuscular medio y MCH: hemoglobina celular media) no presentaron diferencias significativas entre sí ($P > 0.05$), al igual que la serie blanca (leucocitos, heterófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos) ninguno de los parámetros resultó con diferencias significativas ($P > 0.05$) para el tratamiento control y tratamiento con Lisozimas, respectivamente.

Cuadro 7. Efecto de la Lisozima de la clara de huevo en la concentración de inmunoglobulinas y hemograma de los pollos de engorde (35 días).

Ítems	Tratamientos experimentales		EE±	Valor de P	Referencia
	Control	Lisozimas			
IgA (mg/dL)	0.40	0.39	0.029	0.877	0.3-0.5
IgG (mg/dL)	9.27	9.13	1.071	0.934	5-15
Eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	3.08	3.41	0.127	0.140	2.5-3.5
Hemoglobina (g/dL)	9.30	10.00	0.404	0.155	7-13
PVC (%)	28.00	31.00	1.155	0.140	22-35
VCM (fL)	113.67	118.67	2.028	0.156	90-140
HCM (pg)	39.67	43.00	0.943	0.067	33-47
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	28.67	25.67	2.539	0.450	20-40
Leucocitos (μL)	19,763.33	17,123.33	512.694	0.285	12,000-30,000
Heterofilos (%)	24.00	21.33	3.037	0.568	15-40
Eosinofilos (%)	4.67	3.67	1.453	0.652	1-6
Linfocitos (%)	65.67	69.33	3.598	0.511	45-70
Monocitos (%)	5.67	5.66	0.972	0.990	5-10
Basofilos (%)	0.00	0.00			Raro

PVC: presión venosa central; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina celular media.

El análisis de los rangos hematológicos son estudios importantes para determinar la salud del ave, con base a esto poder evaluar indicadores de salud y confirmar un diagnóstico (Gálvez *et al.* 2009). Según su morfología nuclear, las células del sistema inmune pueden dividirse en agranulocitos (linfocitos, monocitos y plaquetas) y los granulocitos (heterófilos, eosinófilos y basófilos), al momento de evaluar un hemograma se toman en cuenta tres tipos de células: eritrocitos, leucocitos y trombocitos (Gutiérrez y Corredor 2017).

Los anticuerpos cumplen una vital función en el organismo, ya que son los que responden ante un antígeno. En las aves existen tres tipos de isotopos: Una de alto peso molecular (IgM) y dos subclases, la IgG que se encuentra en el plasma y las de tipo IgA que se encuentran en las secreciones externas (Díaz *et al.* 2014). Los resultados referentes a las inmunoglobulinas G y A para ambos tratamientos resultaron estar entre los valores de referencia, en un término medio sin inferencias estadísticas ($P > 0.05$), los resultados demuestran que las aves cuentan con los anticuerpos necesarios para dar una respuesta inmune. Se descarta la presencia de enfermedades o cuadros infecciosos.

Para los resultados de la serie roja, los eritrocitos, hemoglobina, PVC, VMC y HCM presentaron valores dentro de los rangos de referencia. Estos resultados no obtuvieron diferencias ($P > 0.05$) ya

que al estar dentro de los valores de referencia indica que todo está dentro de los parámetros establecidos. Por los datos obtenidos se descartan cuadros de anemia o policitemia (Copete Sierra 2013).

Los resultados de la serie blanca son de mucha importancia en este estudio, pues los órganos linfáticos mostraron tener cierta superioridad (Cuadro 5) para el tratamiento con Lisozimas. Los órganos linfoides están estrechamente relacionados con la inmunidad humoral del organismo. (Avilez *et al.* 2015). Los linfocitos en el tratamiento con Lisozimas mostraron un 3.66% más que el tratamiento control, esto puede estar relacionado al desarrollo de los órganos linfáticos. Según Al-Khalaifa *et al.* (2019) el recuento de los linfocitos refleja la capacidad inmunológica del ave, pudiendo así descartar cuadros de linfocitosis o de linfopenia.

Avilez *et al.* (2015) menciona que es de gran ayuda el recuento total leucocitario, ya que nos ayuda a conocer si existe leucocitosis (aumento) o leucopenia (disminución) y alteraciones que lleven a diversas enfermedades o cambios en el animal, ya que al existir un proceso infeccioso estos suelen elevarse. En el caso de este experimento, según el Cuadro 7, los valores para la serie blanca están dentro de los rangos, pero a la vez los leucocitos, heterófilos y eosinófilos se encuentran en una menor proporción en el tratamiento con Lisozimas, respectivamente. Con estos resultados se descarta la presencia de una leucocitosis, heteropenia o una eosinofilia.

En cuanto los trombocitos o plaquetas mostraron tener un recuento dentro de los valores de referencia, aún sin inferencias estadísticas ($P > 0.05$) entre los tratamientos, el tratamiento con Lisozimas presentó una menor concentración de trombocitos. Con estos resultados se descarta la presencia de una trombocitosis y de una trombocitopenia (Sozcu 2019).

4. CONCLUSIÓN

- La inclusión en la dieta de Lisozima a 10 ppm tuvo efecto promotor de crecimiento natural en los pollos de engorde.

5. RECOMENDACIONES

- Desarrollar estudios con la inclusión de Lisozimas en diferentes proporciones para aves ponedoras y otras especies.
- Realizar un estudio comparativo de la Lisozima y un antibiótico promotor de crecimiento en la producción de pollos de engorde.

6. LITERATURA CITADA

- Abdel-Latif MA, El-Far AH, Elbestawy AR, Ghanem R, Mousa SA, Abd El-Hamid HS. 2017. Exogenous dietary lysozyme improves the growth performance and gut microbiota in broiler chickens targeting the antioxidant and non-specific immunity mRNA expression. PLoS ONE, 12(10):e0185153. doi:10.1371/journal.pone.0185153.
- Abergel C, Monchois V, Byrne D, Chenivresse S, Lembo F, Lazzaroni JC, Claverie JM. 2007. Structure and evolution of the Ivy protein family, unexpected lysozyme inhibitors in Gram-negative bacteria. Proc Natl Acad Sci U S A. 104(15):6394–6399. eng. doi:10.1073/pnas.0611019104.
- Al-Khalaifa H, Al-Nasser A, Al-Surayee T, Al-Kandari S, Al-Enzi N, Al-Sharrah T, Ragheb G, Al-Qalaf S, Mohammed A. 2019. Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of broiler chickens and hematologic parameters. Poult Sci. 98(10):4465–4479. eng. doi:10.3382/ps/pez282
- Apata DF. 2008. Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. J. Sci. Food Agric. 88(7):1253–1258. doi:10.1002/jsfa.3214.
- Avilez Colón BL, Rugeles Pinto CC, Jabib Ruiz L, Herrera Benavides YM. 2015. Parámetros hematológicos en pollos de engorde criados en una granja de producción cerrada en el trópico bajo. Rev. Med. Vet. Revista Médica Veterinaria, (29):33. doi:10.19052/mv.3444.
- Bojesen AM, Nielsen SS, Bisgaard M. 2003. Prevalence and transmission of haemolytic *Gallibacterium* species in chicken production systems with different biosecurity levels. Avian Pathology, 32(5):503–510. doi:10.1080/0307945031000154107.
- Chiu HC, Lin CW, Suen S.Y. 2007. Isolation of lysozyme from hen egg albumen using glass fiber-based cation-exchange membranes. Journal of Membrane Science. 290(1-2):259–266. doi:10.1016/j.memsci.2006.12.042.
- Cobb Vantress. 2018. 2018. Pollo de Engorde: Cobb 500, Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollo de engorde. Estados Unidos: Cobb; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://www.cobb-vantress.com/assets/Cobb-Files/c8850f8e02/6998d7c0-12d1-11e9-9c88-c51e407c53ab.pdf>.
- Copete Sierra M. 2013. Aspectos Generales de la Evaluación Hematológica en Fauna Silvestre y no Convencional. Memorias de la Conferencia Interna en Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre, Exótica y No Convencional; [consultado el 20 de sep. de 2020]. 9(1):17–55. <https://www.revistas.veterinariosvs.org/index.php/cima/article/view/126/PDF>
- Díaz López EA, Uribe Velásquez LF, Narváez Solarte W. 2014. Bioquímica sanguínea y concentración plasmática de corticosterona en pollo de engorde bajo estrés calórico. Rev. Med. Vet. (28):31. doi:10.19052/mv.3179.

- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. Poultry development review. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations. ISBN: 978-92-5-108067-2; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <http://www.fao.org/3/i3531e/i3531e.pdf>.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2019. Crecimiento demográfico y crisis alimentaria. Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación; [consultado el 28 de jul del 2020]. <http://www.fao.org/3/u3550t/u3550t04.htm>.
- Gálvez C, Ramírez G, Osorio J. 2009. El laboratorio clínico en hematología de aves exóticas. *Biosalud*, 8: 178–188.
- Gong M. 2014. 2014. Efficacy of Lysozyme as an Alternative to Antibiotics for Broiler Chickens [Tesis de Maestría]. Halifax, Nova Scotia: Dalhousie University. 127 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://xikezymes.com/wp-content/uploads/2019/08/Efficacy-of-Lysozyme-as-an-Alternative-to-Antibiotics-for-Broiler-Chickens.pdf>.
- Gong M, Anderson D, Rathgeber B, MacIsaac J. 2017. The effect of dietary lysozyme with EDTA on growth performance and intestinal microbiota of broiler chickens in each period of the growth cycle. *Journal of Applied Poultry Research*, 26(1): 1-8. doi:10.3382/japr/pfw041.
- Guo FC, Kwakkel RP, Williams BA, Li WK, Li HS, Luo JY, Li XP, Wei YX, Yan ZT, Versteegen MWA. 2004. Effects of mushroom and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on growth performance of broilers. *British Poultry Science*, 45(5): 684–694.
- Gutiérrez L, Corredor J. 2017. Parámetros sanguíneos y respuesta inmune en pollos de engorde alimentados con probióticos. *Veterinaria y Zootecnia*, 11: 81–92.
- Humphrey BD, Huang N, Klasing KC. 2002. Rice expressing lactoferrin and lysozyme has antibiotic-like properties when fed to chicks. *Journal of Nutrition*, 132(6): 1214–1218. d
- Lee M, Kovacs-Nolan J, Yang C, Archbold T, Fan MZ, Mine Y. 2009. Hen egg lysozyme attenuates inflammation and modulates local gene expression in a porcine model of dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6): 2233–2240.
- Lesnierowski G, Cegielska-Radziejewska R, Kijowski J. 2004. Thermally and chemical-thermally modified lysozyme and its bacteriostatic activity. *World's Poultry Science Journal*, 60(3): 303–310. doi:10.1079/WPS200318.
- Ma X, Zhang S, Pan L, Piao X. 2017. Effects of lysozyme on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal barrier, and microbiota of weaned pigs fed diets containing spray-dried whole egg or albumen powder. *Canadian Journal of Animal Sciences*, 97(3): 466–475. <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0171>
- [MAFF] Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1975. Food standards committee report on novel protein foods. 1ª ed. H.M. Stationery Office. 82 p.
- Narabara K, Abe A, Hanieh H, Kondo Y. 2009. B cell differentiation in the bursa of Fabricius and spleen of embryos and chicks immediately after hatching. *Animal Science Journal*, 80: 669–677.
- Nattress F. 2001. Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 70(1-2): 111–119.

- Nisbet DJ, Corrier DE, Scanlan CM, Hollister AG, Beier RC, Deloach JR. 1994. Effect of dietary lactose and cell concentration on the ability of a continuous-flow-derived bacterial culture to control *Salmonella* cecal colonization in broiler chickens. *Poult Science*, 73(1): 56–62.
- Niyonsaba F, Ushio H, Okuda D, Nagaoka I, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H. 2005. Synergistic effect of antibacterial agents human beta-defensins, cathelicidin LL-37 and lysozyme against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Dermatological Science*, 40(2): 123–132. doi:10.1016/j.jdermsci.2005.03.014.
- Patterson JA, Burkholder KM. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poult Science*., 82(4): 627–631. doi:10.1093/ps/82.4.627.
- Prendes L. 2019. Metabolismo del sistema digestivo, del hígado, de la vesícula y de las vías biliares: En condiciones de salud y en las enfermedades. 1ª ed. Editorial Universidad Rosario de Colombia. 258 p. ISBN: 9789587843460.
- Rubio CA. 2014. The natural antimicrobial enzyme lysozyme is up-regulated in gastrointestinal inflammatory conditions. *Pathogens*, 3(1): 73–92. doi:10.3390/pathogens3010073.
- Sahoo N, Kumar P, Bhusan B, Bhattacharya T, Dayal S, Sahoo M. 2012. Lysozyme in livestock: A guide to selection for disease resistance: A review. *Journal of Animal Science Advances*. 2(4): 347–360.
- Schwarz S, Kehrenberg C, Walsh TR. 2001. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(6): 431–437. doi:10.1016/s0924-8579(01)00297-7.
- Sergeant MJ, Constantinidou C, Cogan TA, Bedford MR, Penn CW, Pallen MJ. 2014. Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome. *PLoS ONE*, 9(3): e91941. doi:10.1371/journal.pone.0091941.
- Sozcu A. 2019. Growth performance, pH value of gizzard, hepatic enzyme activity, immunologic indicators, intestinal histomorphology, and cecal microflora of broilers fed diets supplemented with processed lignocellulose. *Poultry Science*, 98(12): 6880–6887. doi:10.3382/ps/pez449.
- Stevens CE, Hume ID. 1998. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation of nutrients. *Physiological Review*, 78(2): 393–427. doi:10.1152/physrev.1998.78.2.393.
- Thiex NJ, Manson H, Andersson S, Persson J-A. 2002. Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: collaborative study. *J AOAC Int*. 85(2):309–317. eng.
- USDA. 2018. La producción mundial de carne de pollo sigue creciendo y superará los 90 M de Tm en 2018 según el USDA: Avicultura. EEUU: United States Department of Agriculture; [consultado el 20 de ago del 2020]. <https://avicultura.com/usda-la-produccion-mundial-de-carne-de-pollo-sigue-creciendo-y-superara-los-90-m-de-tm-en-2018-segun-el-usda/>.
- Vacchio MS, Ashwell JD. 2000. Glucocorticoids and thymocyte development. *Seminars in Immunology*. 12(5): 475–485. doi:10.1006/smim.2000.0265.

- van Immerseel F, Boyen F, Gantois I, Timbermont L, Bohez L, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R. 2005. Supplementation of coated butyric acid in the feed reduces colonization and shedding of Salmonella in poultry. *Poultry Science*, 84(12): 1851–1856. doi:10.1093/ps/84.12.1851.
- Whittow GC. 2014. *Sturkie's Avian Physiology*. 5^a ed. San Diego: Elsevier Science. 701 p. ISBN: 0080542085.
- Xu Y, Lin YM, Stark CR, Ferket PR, Williams CM, Brake J. 2017. Effects of dietary coarsely ground corn and 3 bedding floor types on broiler live performance, litter characteristics, gizzard and proventriculus weight, and nutrient digestibility. *Poultry Science*, 96(7): 2110–2119. doi:10.3382/ps/pew485.
- Zaefarian F, Abdollahi MR, Cowieson A, Ravindran V. 2019. Avian Liver: The Forgotten Organ. *Animals (Basel)*. 9(2). eng. doi:10.3390/ani9020063.
- Zhang G, Darius S, Smith SR, Ritchie SJ. 2006. *In vitro* inhibitory effect of hen egg white lysozyme on *Clostridium perfringens* type A associated with broiler necrotic enteritis and its alpha-toxin production. *Letters in Applied Microbiology*, 42(2): 138–143. doi:10.1111/j.1472-765X.2005.01812.x